

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.01.033

❖ 综述 ❖

缺血性脑梗死再灌注损伤的作用机制的研究进展

薛芳,王娟,彭立威,赵莹,吴冰洁

(河北医科大学第二医院东院区神经内科,河北 石家庄 050000)

【摘要】缺血性脑梗死再灌注损伤的发生机制极其复杂,多认为可能与酸中毒、炎症反应、氮化应激、氧化应激、 Ca^{2+} 超载、细胞凋亡、能量代谢障碍、血脑屏障破坏、线粒体功能障碍、兴奋性氨基酸过度释放等密切相关。为此,本研究在 CNKI、Pubmed 数据库,检索关于脑梗死再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤机制的文献,以期为后续治疗提供有力参考依据。

【关键词】缺血性脑梗死;损伤;再灌注

【中图分类号】 R743 **【文献标志码】** A

The mechanism of reperfusion injury in ischemic cerebral infarction

XUE Fang, WANG Juan, PENG Li-wei, ZHAO Ying, WU Bing-jie

(Department of Neurology, East District of the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei, China)

【Abstract】 The mechanism of cerebral reperfusion injury in ischemic cerebral infarction is extremely complex. At present, the research has gone deep into the molecular level, and it is believed that it may be closely related to acidosis, inflammatory reaction, nitridation stress, oxidative stress, Ca^{2+} overload, apoptosis, energy metabolism disorder, blood-brain barrier damage, mitochondrial dysfunction, excitatory amino acid over release, etc. For this reason, this study searched the literature about the injury mechanism of cerebral infarction reperfusion (I/R) through Chinese National Knowledge Infrastructure (CNKI), PubMed and other databases at home and abroad, providing a reference for the research and development of therapeutic drugs and clinical treatment in the future.

【Key words】 Ischemic cerebral infarction; Injury; Reperfusion

缺血性脑梗死严重危害人类健康,死亡率高,约占全球死亡总数的 11.3%^[1]。尽早实现缺血组织的血液再灌注是该病目前公认的最有效的治疗方案,通过挽救濒死脑细胞,进而改善能量代谢、保证氧供应、保证细胞正常功能。然而,缺血再灌注可使缺血细胞产生级联反应损伤,时间越长,兴奋性递质含量越低,脑组织超微结构改变越明显,继而诱发缺血细胞的死亡,这一过程被称为 I/R 损伤。当今 I/R 损伤的研究难点较多,国内外均对其机制进行了研究。本研究归纳了 10 种机制,综述如下。

1 酸中毒

缺血后神经元损伤的主要原因之一是乳酸酸中毒。神经元缺血后,能量中间体腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)被消耗,局部产生的大量氢离子(H^+)、 CO_2 不能被及时清除;同时,在缺血缺氧条件下,脑组织无氧代谢增加,乳酸升高,从而发生酸中毒,文献^[2]报导 pH 值可从 7.3 迅速降到 6.5 左右,甚至更低。Zhang 等^[3]通过观察线粒体脑肌

病伴乳酸酸中毒与卒中样发作患者,证明此类患者颅内缺血细胞中堆积的乳酸及超载钙离子(Ca^{2+})通过破坏大脑神经递质 γ -氨基丁腺素的功能和损伤钠离子通道(Na^+),从而导致神经元兴奋性毒性的发生。此外,酸中毒也可能与氧化应激机制协同损伤神经元, Karien 等^[4]通过对 54 例乳酸酸中毒患者的病情进行回顾性分析,发现在缺血条件下,形成的低 pH 值状态可导致体内抗氧化剂的功能损伤,从而打破体内氧化和抗氧化物质的平衡,最终导致缺血组织的坏死。

2 炎症反应

最近实验^[5]发现,脑缺血发生初期缺血细胞大量坏死,同时伴随炎症细胞因子过表达,激活炎症级联反应,启动免疫应答系统,进而严重损伤脑组织。脑灌注损伤(I/R)前,由于处于缺血缺氧状态,自由基大量生成,同时坏死组织引起机体免疫应答,外周白细胞通过释放某些可溶性因子和细胞内成分,激活小胶质细胞转化成巨噬细胞,而后者通过吞噬作

用,清除包括神经元在内的死亡脑组织细胞,同时产生过量的炎症介质,如转化生长因子- β 、肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-6 和白细胞介素-10,从而引发后续的级联反应,加剧缺血组织的损伤^[6];再灌注后, Ca^{2+} 超载以及具有兴奋作用的氨基酸 (excitatory amino acids, EAA) 过度释放,进一步加重缺血区域炎症损伤^[7]。有研究^[8-9]发现,生理情况下,脑神经细胞、胶质细胞和内皮细胞之间保持稳定的信号传递,而 I/R 后炎症级联反应破坏了这一过程,使得脑功能恶化。

3 氮化应激

具有活性的氮簇增加造成机体损伤称为氮化应激。再灌注后钙调蛋白 (calmodulin, CaM) 介导钙离子超载,并且产生活性氮簇介导氮化应激损伤,加快细胞死亡进程。活性的氮簇如一氧化氮 (nitric oxide, NO)、二氧化氮 (nitrogen dioxide, NO_2) 等^[10]。其中 NO 是细胞内外的信息传递分子,在一氧化氮合酶 (nitric oxide synthetase, NOS) 催化下产生,可维持人体生理功能同时参与某些病理过程。据研究,在缺血再灌注过程中,NO 的作用似乎是矛盾的,它既具有保护脑组织的正面作用,也兼具细胞毒性的负面作用。研究^[11]显示,NO 的正面作用是维持脑血流,抑制血小板聚集,负面作用是 NO 和超氧化物具有高度反应性,持续产生大量的 NO,可与超氧阴离子形成 ONOO^- 和 OH^- ,产生过氧化亚硝酸盐,后者具有细胞毒性,导致脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic, DNA) 氧化。另外,NO 还参与线粒体合成和功能的调控,而脑缺血时的氮化应激时,过量的 NO 可破坏细胞内的细胞器,进一步加重脑缺血损伤。由于 NO 不稳定,多数研究集中在具有催化作用的 NOS 上。研究^[12]发现,各种 NOS 在再灌注损伤时发挥的功能不同,如内皮型 eNOS 通过促进血管舒张起到保护作用;神经元型 nNOS 在缺血早期起到损伤作用;诱导型 iNOS 在细胞损伤的晚期阶段发挥作用。

4 氧化应激

多数神经变性疾病发病过程中,氧化应激的主要产物 (自由基) 均会造成严重的脑损伤。脑组织内花生四烯酸的含量丰富,相较于其他器官,更容易造成脑组织的氧自由基和脂质过氧化物堆积,加之神经变性疾病多会造成这些有害物质的清除能力显著降低,这些物质蓄积而造成神经元损伤^[13]。有研究^[14]发现,正常生理状态下,线粒体利用氧气合成 ATP;而当脑缺血时,线粒体膜因被过氧化,造成其

结构的破坏,致使其功能的丧失。此过程中 O_2 多数转化为 O^{2-} ,其余部分生成 HO^- ,造成线粒体裂变/融合失衡,上调了 N-甲基-D-天冬氨酸受体数量,生成更多种的脂质过氧化物。其后果是进一步打破抗氧化物与自由基之间的动态平衡,细胞内大分子物质被悉数降解,如蛋白质、核酸、脂质等,即 DNA 损伤,蛋白质变性,酶失活,最终导致细胞凋亡^[15]。

5 Ca^{2+} 超载

钙离子是体内重要的元素之一,参与诸多生命活动,如维持细胞生理功能、增殖和分化等。故钙离子超载引发的损伤,可体现在 I/R 损伤全过程,即参与能量代谢障碍、细胞凋亡、线粒体功能障碍、自由基和 EAA 引发的损伤过程。 Ca^{2+} 超载造成的机体损害包括^[16-18]:(1) 超载的 Ca^{2+} 引起钙依赖磷脂酶的大量激活,从而分解生物膜结构;(2) 缺血部位的 Ca^{2+} 超载,诱发血管平滑肌痉挛,引发内皮细胞损害和继发的血栓形成;(3) 随着细胞内渗透压增大,细胞外液透过细胞膜达到细胞内,造成细胞肿胀坏死;(4) 由于细胞内阳离子浓度变化,细胞膜发生去极化,导致 EAA 过量释放;(5) 线粒体也因 Ca^{2+} 的进入,而导致膜电位失衡,造成线粒体的功能障碍,从而启动细胞凋亡。脑缺血早期的病理机制就是 ATP 耗竭和酸中毒,前者是 ATP 酶活性降低后,引起细胞膜去极化, Ca^{2+} 大量入流;而酸中毒是协同细胞内超载的 Ca^{2+} ,通过损伤 Na 通道的动力,从而促使细胞内储存的 Ca^{2+} 大量释放^[19]。再灌注后,缺血区域涌现出 EAA,酸敏感离子通道被堆积的 H^+ 激活,形成同聚体通道,造成细胞内 Ca^{2+} 再增加。同时离子型 N-甲基-D-天门冬氨酸受体 (NMDA) 受体被 EAA 激活,电压门控性 Ca^{2+} 通道进一步开放,造成更严重的钙离子超载状态^[20]。

6 细胞凋亡

脑缺血损伤的终末环节之一是细胞凋亡,其参与多种疾病的病理过程,扮演着关键角色。同样,细胞凋亡与缺血再灌注损伤密切相关^[21]。脑梗死导致细胞凋亡的机制有:(1) 细胞生长因子表达减少:绝大多数细胞的生存离不开生长因子的作用,而当细胞缺乏氧气养分时,神经生长因子 (nerve growth factor, NGF)、脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、TGF- β 、生长相关蛋白 43 (growth associated protein43, GAP-43) 等生长因子和可塑性蛋白表达受到抑制,致使脑细胞表面瞬时受体电位通道亚族 M7 (transientreceptorpotentialmelastatin,

TRPM7)通道被激活,TRPM7 出现过表达,其作用是促进钙离子内流,导致神经元凋亡。(2)缺血区产生了过量的自由基,自由基能够正性调节 TRPM7 通道的过表达,最终诱发细胞凋亡^[22]。

7 能量代谢障碍

人体能量最旺盛的器官为大脑,约为 20%^[23]。而能量障碍在 I/R 损伤的早期阶段即开始出现,即急性缺血期。脑组织因缺乏足量的氧供和能量物质,细胞不能产生足够的 ATP 供能,而 ATP 为细胞膜上的 Na-K-ATP 酶激动剂,当 ATP 合成减少时,可造成酶活性下降和功能异常,继而诱发膜内外钠钾交换障碍,引起细胞膜过量去极化,进而 EAA 过量分泌、线粒体功能缺失,导致神经元细胞死亡,最终出现更加严重的脑功能障碍。

8 血脑屏障破坏

血脑屏障(blood brain barrier, BBB)是一种由血管内皮细胞、基底膜和星形胶质细胞足突组成的高度分化的脑内皮结构,存在于血液和脑组织之间,可选择性阻碍物质通过,调控物质交换^[24]。有研究^[25]显示, BBB 结构的破坏在 I/R 发生、发展中起到重要作用,血液供应遭到破坏,可促进一系列病理生理级联反应,如炎症、线粒体死亡途径、蛋白质错误折叠、兴奋性毒性等,这些炎症反应会诱发大量炎症因子的生成并释放,在缺血区域聚集并浸润损伤内皮细胞,破坏内皮细胞的紧密连接造成 BBB 结构和功能被破坏,即 BBB 通透性增加。缺血细胞的钠钾泵功能丧失,导致细胞内 Na⁺ 增多,胞外水分内流,引发血管源性脑水肿;同时因为血管内流量下降,导致微循环障碍;此外,氧化应激诱发的脂质过氧化亦会损伤细胞膜结构,加重 BBB 破坏。由此可见,在 I/R 时, BBB 损伤与炎症反应、氧化应激、内皮细胞损伤密切相关^[26-27]。

9 线粒体功能障碍

细胞内线粒体是大脑供能的发动机,脑缺血发生后,线粒体功能出现障碍。研究^[28]发现, I/R 后,线粒体内的功能酶,如细胞色素 C 氧化酶(cytochrome c oxidase, CytC)、琥珀酸氧化酶、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NADH)氧化酶活性显著降低,从而证实脑线粒体功能在 I/R 期间受损;在 I/R 期间,线粒体膜电位降低是凋亡级联反应中最先发生的重要事件之一,24 h 时达到最低,进而导致线粒体功能障碍,细胞会进入不可逆的凋亡过程;而且线粒体膜电位异常会导致

ROS 生物合成持续增加,ROS 引发链式反应,同时 I/R 引起的 Ca²⁺ 超载和炎症反应,通过激活 Caspase-3 以及相关的 Caspase 级联导致神经元细胞死亡。

10 兴奋性氨基酸(EAA)过度释放

氨基酸是构成体内结构蛋白、酶类和递质的基础物质,而按照体内递质氨基酸的兴奋性,可分为抑制性氨基酸及 EAA^[29]。正常情况下 EAA 主要存在于神经末梢的突触囊泡内,当脑组织血供不足时,神经末梢发生去极化,大量 EAA 被释放,与突触后膜的特异性受体结合,完成兴奋性突触传递。与此同时,脑组织因血液流通受阻不能通过正常途径产生足够的 ATP 供能,造成过量的 EAA 不能被分解,从而产生兴奋性细胞毒性作用。此外, EAA 还可造成 Ca²⁺ 超载损伤,双重毒性损伤协同作用于细胞,造成突触后神经元死亡^[30]。

11 结语与展望

脑组织发生缺血后,会出现一系列缺血级联反应,引起脑组织损伤。缺血造成局部脑组织因血供不足,缺乏代谢所需的氧气,造成 ATP 生成锐减。首先,ATP 作为细胞膜钠钾泵的供能体,其生产减少将诱发脑细胞内外钠钾失衡,进而改变渗透压差,致使胞外液体大量流入胞内,最终导致脑组织水肿。缺血状态如果继续恶化,神经元内生成大量的 EAA、自由基,出现炎症,最终细胞凋亡坏死。大量自由基生成会引发一系列连锁反应,包括膜脂质过氧化、血管效应、神经毒性损伤、线粒体功能受损,导致细胞凋亡。当脑组织血供不足时,神经元通过释放某些可溶性因子和细胞内成分使小胶质细胞转化成巨噬细胞,不仅可清除包括神经元在内的死亡脑组织细胞,亦能够产生多种炎症因子使细胞损伤加重。I/R 后脑血流恢复去挽救部分濒死的脑细胞,但 BBB 被破坏,致使 H⁺、Ca²⁺ 和促炎性因子透过屏障,损伤脑细胞的同时,吸引免疫细胞,引发继发性损伤级联,进一步加剧脑损伤,加重神经元死亡。现阶段 I/R 多被认为是一个多因素、多细胞介导的病理损伤过程,其中的损伤机制和相互关系,还需要进一步探索,是脑缺血治疗的重要方向。

参考文献

- [1] Zhang C, Zhao S, Zang Y, et al. The efficacy and safety of D1-3n-butylphthalide on progressive cerebral infarction: A randomized controlled STROBE study[J]. *Medicine*, 2017, 96(30): e7257.
- [2] Li R, Xiao H, Lyu J, et al. Differential diagnosis of mitochondrial encephalopathy with lactic acidosis and stroke-like episodes

- (MELAS) and ischemic stroke using 3D pseudocontinuous arterial spin labeling[J]. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 2017, 45(1):199-206.
- [3] Zhang Z, Zhao D, Zhang X, et al. Survival analysis of a cohort of Chinese patients with mitochondrial encephalomyopathy with lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS) based on clinical features[J]. *Journal of the Neurological Sciences*, 2018, 385:151-155.
- [4] Karien EJ, Zander L, Shayne M, et al. A urinary biosignature for mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke like episodes (MELAS)[J]. *Mitochondrion*, 2018, 4(9):95-97.
- [5] Cotrina M, Lou N, Tome-Garcia J, et al. Direct comparison of microglial dynamics and inflammatory profile in photothrombotic and arterial occlusion evoked stroke [J]. *Neuroscience*, 2017, 343(16):483-494.
- [6] Monica SS, Venugopal RV, Michal J, et al. Age-related changes in the gut microbiota influence systemic inflammation and stroke outcome[J]. *Annals of Neurology*, 2018, 84(1):56-59.
- [7] Liu JJ, Kay N, Gary B, et al. Post-stroke treatment with argon attenuated brain injury, reduced brain inflammation and enhanced M2 microglia/macrophage polarization: a randomized controlled animal study[J]. *Critical Care*, 2019, 23(1):159-162.
- [8] Zrzavy T, Machado-Santos J, Christine S, et al. Dominant role of microglial and macrophage innate immune responses in human ischemic infarcts [J]. *Brain Pathology*, 2017, Doi: 10.1111/bpa.12583.
- [9] Cecilia L, Somsak W, Naomi U, et al. Monocyte depletion early after stroke promotes neurogenesis from endogenous neural stem cells in adult brain[J]. *Experimental Neurology*, 2017, 297(51):164-167.
- [10] Novaes R, Santos E, Fialho M, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory is more effective than anti-oxidant therapy in counteracting oxidative/nitrosative stress and heart disease in T. cruzi-infected mice [J]. *Parasitology*, 2017, 144(7):1-13.
- [11] Narne P, Pandey V, Phanithi P. Role of Nitric Oxide and Hydrogen Sulfide in Ischemic Stroke and the Emergent Epigenetic Underpinnings[J]. *Molecular Neurobiology*, 2018, 56:1-21.
- [12] Haghikia A, Yanchev G, Kayacelebi A, et al. The role of l-arginine/l-homoarginine/nitric oxide pathway for aortic distensibility and intima-media thickness in stroke patients[J]. *Amino Acids*, 2017, 49(6):1111-1121.
- [13] Lucy L, Kevin RM, Nagireddy P, et al. The Glia-Neuron Lactate Shuttle and Elevated ROS Promote Lipid Synthesis in Neurons and Lipid Droplet Accumulation in Glia via APOE/D[J]. *Cell Metabolism*, 2017, 26(5):719-737.
- [14] Pan L, Zhou Y, Li X, et al. Preventive treatment of astaxanthin provides neuroprotection through suppression of reactive oxygen species and activation of antioxidant defense pathway after stroke in rats[J]. *Brain Research Bulletin*, 2017, 130(4):211-220.
- [15] Ritchie R, Drummond G, Sobey C, et al. The opposing roles of NO and oxidative stress in cardiovascular disease[J]. *Pharmacological Research*, 2017, 116(9):57-69.
- [16] Li Y, Dang Y, Han D, et al. An Angiopep-2 functionalized nanofor-
mulation enhances brain accumulation of tanshinone IIA and exerts neuroprotective effects against ischemic stroke[J]. *New Journal of Chemistry*, 2018, 42(8):58-61.
- [17] Muzzi M, Gerace E, Buonvicino D, et al. Dextrampipexole improves bioenergetics and outcome in experimental stroke[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2018, 175(2):272-283.
- [18] Wong S, Jansen J, Zhang C, et al. Measuring subtle leakage of the blood-brain barrier in cerebrovascular disease with DCE-MRI: Test-retest reproducibility and its influencing factors [J]. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 2017, 5(7):432-434.
- [19] Jiang K, Wang W, Jin X, et al. Silibinin, a natural flavonoid, induces autophagy via ROS-dependent mitochondrial dysfunction and loss of ATP involving BNIP3 in human MCF7 breast cancer cells [J]. *Oncology Reports*, 2015, 33(6):2711-2718.
- [20] Jung-Ick B, Soon-Tae L, Jangsup M, et al. Distinct intrathecal interleukin-17/interleukin-6 activation in anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis [J]. *Journal of Neuroimmunology*, 2016, 297:141-147.
- [21] Li SH, Liu JL, Chen L, et al. Decreased miR-146a expression in acute ischemic stroke directly targets the Fbx10 mRNA and is involved in modulating apoptosis [J]. *Neurochemistry International*, 2017, 45(6):363.
- [22] Uzdensky A. Apoptosis regulation in the penumbra after ischemic stroke: expression of pro- and antiapoptotic proteins [J]. *Apoptosis*, 2019, 14(Suppl 2):61-63.
- [23] Camandola S, Mattson MP. Brain metabolism in health, aging, and neurodegeneration [J]. *The EMBO Journal*, 2017, 5(8):810.
- [24] Kim K, Shin D, Kim J, et al. Role of Autophagy in Endothelial Damage and Blood-Brain Barrier Disruption in Ischemic Stroke [J]. *Stroke*, 2018, 151(17):172-173.
- [25] Jiang X, Andjelkovic A, Zhu L. Blood-brain barrier dysfunction and recovery after ischemic stroke [J]. *Progress in Neurobiology*, 2017, 13(5):163-164.
- [26] LeBlanc NJ, Menet R, Picard K, et al. Canonical Wnt Pathway Maintains Blood-Brain Barrier Integrity upon Ischemic Stroke and Its Activation Ameliorates Tissue Plasminogen Activator Therapy [J]. *Molecular Neurobiology*, 2019, 5(16):95-96.
- [27] Zhou Y, Li Y, Jin H, et al. Sema4D/PlexinB1 inhibition ameliorates blood-brain barrier damage and improves outcome after stroke in rats [J]. *The FASEB Journal*, 2017, 32(4):786-787.
- [28] Zhang Z, Zhao D, Zhang X, et al. Survival analysis of a cohort of Chinese patients with mitochondrial encephalomyopathy with lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS) based on clinical features [J]. *Journal of the Neurological Sciences*, 2018, 385(8):151-155.
- [29] Mehta S, Vemuganti R. Ischemic Stroke Alters the Expression of the Transcribed Ultraconserved Regions of the Genome in Rat Brain [J]. *Stroke*, 2018, 118(15):020663.
- [30] Tang N, Wu J, Zhu H, et al. Genetic Mutation of GluN2B Protects Brain Cells Against Stroke Damages [J]. *Molecular Neurobiology*, 2017, 6(15):169-172.

(收稿日期:2020-04-07

修回日期:2020-07-21)